FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1966

THÈSE

N° 874

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PAR

Paulette TOUREH née GARAT

le 28 février 1936 à St Martin de Hinx (Les Landes)

Ancien externe des Hôpitaux de Paris

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 1966

RECHERCHE ET DOSAGE DU PHENOL ET PARA CRESOL DANS LES URINES DE NOURRISSONS ET D'ENFANTS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.

Président : M. H. DESOILLE, Professeur.

ÉDITIONS A.G.E.M.P. 40 RUE PASCAL PARIS

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1966

N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PAR

Paulette TOUREH née GARAT

le 28 février 1936 à St Martin de Hinx (Les Landes)

Ancien externe des Hôpitaux de Paris

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE

RECHERCHE ET DOSAGE DU PHENOL ET PARA CRESOL DANS LES URINES DE NOURRISSONS ET D'ENFANTS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.

Président : M. H. DESOILLE, Professeur.

ÉDITIONS A.G.E.M.P. 40 RUE PASCAL PARIS

UNIV.
LEIDEN
BIB.
Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544317_0007

1/1/1966

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN . . . . . Georges BROUET.

1er ASSESSEUR . . . . . Daniel BARGETON

2e ASSESSEUR . . . . . Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
—	POLONOVSKI (J.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	DENOIX (P.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
—	KUSS (R.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
—	PÉQUIGNOT (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	N...
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
—	LEVY (Mlle J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)

	MM.
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie	BARBIER (P.)
Biochimie médicale	DESGREZ (P.) DREYFUS (J.-Cl.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Histologie	COUJARD (R.)
Parasitologie	LARIVIÈRE (M.)
Pathologie expérimentale	LOEPER (J.) RICHET (G.)
Physiologie	DEJOURS (P.) ROUCAYROL (J.-Cl.) SCHERRER (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.) GOUGEROT (L.) TUBIANA (M.)
Radiologie médicale	FISCHGOLD (H.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

		MM.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		SOULIÉ (P.)
— — (Boucicaut)		LENÈGRE (J.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	—	N...
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
— — — (Foch)		PADOVANI (P.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)		DUPERRAT (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)		TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		BERNARD (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales	Bicêtre	DEPARIS (M.)
	Broussais	MILLIEZ (P.)
	Cochin	BROUET (G.)
	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Lariboisière	SÈZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
	Saint-Antoine	BOUDIN (G.)

	MM.
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales — Baudelocque	LACOMME (M.)
Cliniques obstétricales — Saint-Antoine	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G.)
— — (Cochin)	BREGEAT (P.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie	MOZZICONACCI (P.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	THIEFFRY (S.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique	GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	JUDET (R.)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER (P.)
— — (Necker)	COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (R.)
Séméiologie médicale (A. Chantin)	DOMART (A.)
— — (Lariboisière)	BOUVRAIN (Y.)
— — (Pitié)	RAMBERT (P.)
— — (Rothschild)	WOLFROMM (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	POILLEUX (F.)

b) **Professeurs à titre personnel :**

Hématologie	ANDRÉ (R.)
	BOUSSER (J.)
Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
Médecine	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	CABROL (Ch.)
	GROSSIORD (A.)
	LAMBLING (A.)
	LAUNAY (Cl.)
	PAYET (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F
	WORMS (R.)
Neuro-chirurgie	LE BEAU (J.)
Neurologie	LHERMITTE F.
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
Pédiatrie	POLONOVSKI (Cl.)
	ROYER (P.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
	MEYER (A.)
Rhumatologie	DELCARRE (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.
Anatomie pathologique	GOUYGOU (Ch.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)
Biochimie médicale	CARTIER (P.) GONNARD (P.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)
Hématologie	BILSKI-PASQUIER (B.)
Maladies infectieuses	DUPONT (V.)
Physique médicale	COURSAGET (J.) GREMY (F.)
Physiologie	GIRARD (Fr.)
Stomatologie	CHAPUT (Mme A.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEUR ASSOCIÉ

Statistique médicale et épidémiologique	SCHWARTZ (D.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseillers administratifs	Mlle CHAINTREUIL (G.) M. FAYE (R.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.),
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A ma Mère

En témoignage de ma profonde reconnaissance.

A ma Famille.

A mon Président de Thèse

Monsieur le Professeur H. DESOILLE

Professeur de la Faculté de Médecine
de Paris,

Directeur de l'Institut d'Hygiène Industrielle
et de Médecine du Travail de Paris,

Chevalier de la Légion d'Honneur

Qui nous a fait l'honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.

Qu'il veuille accepter l'expression
de ma profonde gratitude.

A Monsieur J. LEBBE

Ingénieur Chimiste

Licencié ès-Sciences

Assistant à la Faculté
de Médecine de Paris

qui nous a inspiré le sujet de cette thèse et permis de mener à bien, dans ses laboratoires, toutes les phases de nos recherches

Qu'il veuille recevoir notre profonde reconnaissance.

A mes Maîtres de la Faculté de Médecine

et des Hôpitaux de Paris.

Aux Infirmières et aux Puéricultrices de la Maternité et du Service de Pédiatrie de l'Hôpital Intercommunal de Créteil.

qui, par leur dévouement malgré un emploi du temps chargé, ont accepté de recueillir des urines de nourrissons et d'enfants.

avec l'expression de nos sincères remerciements et de nos sentiments respectueux.

INTRODUCTION

La présence, dans l'urine, de composés à fonction phénolique est connue depuis longtemps, après avoir recherché et dosé ces substances dans les urines d'adultes (1), nous avons entrepris le même travail avec les urines de nourrissons et d'enfants.

La méthode adoptée est la chromatographie en phase gazeuse ; il s'agit d'une méthode rapide, simple, relativement peu coûteuse avec une précision et une commodité d'emploi, en général, supérieures à celles des méthodes purement chimiques.

oooOooo

HISTORIQUE DE LA METHODE DE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.

La chromatographie en phase gazeuse fût prévue en 1941 par MARTIN et SYNGE (2) ; elle ne vit le jour qu'en 1952, date à laquelle MARTIN et JAMES (3) publièrent un mémoire.

C'est en Angleterre puis aux Etats-Unis que cette nouvelle méthode analytique fût appliquée, modifiée et perfectionnée. En France, la méthode démarra plus tardivement mais son essor fût rapide, en particulier grâce aux travaux du Groupement pour l'Avancement des Méthodes Spectographiques et Physico-Chimiques d'Analyse (G. A. M. S.).

Cette méthode est actuellement utilisée dans tous les pays et de nombreux articles généraux sont écrits dans toutes les langues. On peut signaler quelques ouvrages parmi beaucoup d'autres :

- Philips C. S. G. (4)	Gas chromatography 1956.
- Keulemans (5)	Gas chromatography 1957.
- Lederer (6)	Chromatographie en chimie organique et biologique 1959.
- Kaiser (7)	Gas chromatography 1963.
- Tranchant (8)	Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse 1964.

GENERALITES SUR LA METHODE

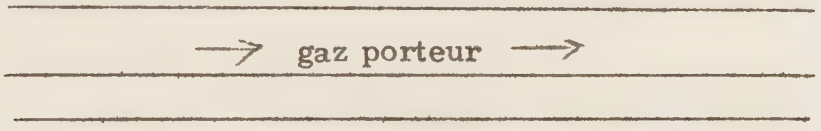
DE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.

SCHEMA DE L'APPAREIL

La chromatographie en phase gazeuse appartient à la grande famille chromatographique ; cette nouvelle forme de chromatographie est apparue le jour où la phase mobile liquide de la chromatographie de colonne classique a été remplacée par un gaz.

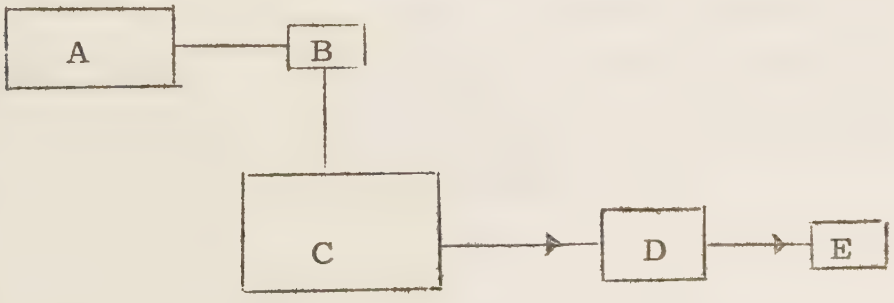
L'expression en phase gazeuse est employée pour suggérer que cette méthode ne s'étend pas seulement à l'analyse des gaz permanents mais aussi à tous les produits ayant une tension de vapeur acceptable.

On peut schématiquement présenter une colonne chromatographique comme un tube avec :



une phase fixe et une phase mobile représentée par le gaz porteur ou vecteur qui parcourt le tube.

Un ensemble de chromatographie en phase gazeuse présente les principales parties constitutives suivantes :



A : réserve de gaz porteur
B : chambre d'introduction de l'échantillon
C : colonne
D : détecteur
E : enregistreur.

LE GAZ VECTEUR

Le plus souvent il est constitué par un gaz pur enfermé dans une bouteille sous une pression élevée.

On utilise l'azote, l'hydrogène, l'hélium, l'argon, le gaz carbonique parfois les mélanges hélium : azote ou hydrogène azote.

Ce gaz doit balayer le chromatographe à vitesse constante.

MESURE DU DEBIT

Les débits de gaz vecteur utilisés étant de l'ordre de quelques fractions de millilitre par minute à quelques dizaines de millilitres par minute, les débitmètres doivent mesurer des débits faibles avec une précision satisfaisante, les plus courants sont :

- les débitmètres à flotteur
- les débitmètres à pression différentielle
- les débitmètres à film de savon.

CHAMBRE D'INJECTION

Elle permet d'éviter l'introduction directe du produit à analyser dans la colonne.

La voie d'introduction, l'état de la substance à analyser (solide-liquide-gazeux), la température de la colonne, la pureté du produit, l'isolement entre l'échantillon et les parois de l'appareil sont autant de facteurs influant sur la qualité de cette chambre.

LES COLONNES

Elles représentent une des pièces principales du chromatographe. Uniques ou multiples pour un même appareil elles peuvent être montées soit en série, soit en parallèle et aboutir à un ou plusieurs détecteurs.

On distingue :

- les colonnes à remplissage ou traditionnelles ;
  elles contiennent un matériau en poudre.

- les colonnes capillaires constituées par un tube vide dont les parois internes servent de support.

LES COLONNES A REMPLISSAGE

LE REMPLISSAGE EN CHROMATOGRAPHIE GAZ LIQUIDE

Un liquide non volatil constituant la phase stationnaire est réparti sur un support fait des grains d'un solide. La phase stationnaire ne doit pas réagir chimiquement avec les solutés analysés ; de plus elle ne doit pas présenter de signes de volatilité ou de décomposition à la température d'utilisation.

LE REMPLISSAGE EN CHROMATOGRAPHIE GAZ SOLIDE.

La colonne est remplie d'un adsorbant solide : charbon actif, del de silice, alumine, tamis moléculaires...

LES COLONNES CAPILLAIRES

La phase stationnaire est ici répartie sur les parois internes de la colonne : elle est réalisée par évaporation d'une solution. La quantité de phase stationnaire doit être faible pour que la dissolution de solutés soit grande et l'équilibre gaz liquide rapide ; de plus les diamètres des tubes doivent être très petits par rapport à leur longueur ; ceci fait que le volume de l'échantillon introduit dans la colonne restera très petit.

LES DETECTEURS.

Ils permettent de noter la sortie des solutés après leur passage dans la colonne.

On distingue deux types de détecteurs :

- les détecteurs intégraux
  - somment les masses totales des solutés
  - donnent des courbes en gradins
- les détecteurs différentiels
  - enregistrent les concentrations instantanées
  - donnent des courbes en pics (généralement des courbes de Gauss).

Le nombre des détecteurs utilisés est grand, deux sont couramment utilisés : à balance de densité gazeuse, les catharomètres.

DETECTION PAR LA BALANCE A DENSITE GAZEUSE

C'est l'équivalent d'un pont de Wheastone appliqué à des flux gazeux.

LES CATAROMETRES A DETECTION PAR CONDUCTIBILITE THERMIQUE

Le principe repose sur le fait que la température prise par un fil fin, chauffé électriquement, dépend, à énergie électrique constante, de la nature du gaz qui l'entoure. Par suite, tous les autres facteurs restant constants (débit-pression) sa résistivité sera sous la dépendance de la composition gazeuse. Ce fil est inséré dans un appareil type pont de Wheastone avec une double cellule : l'une traversée uniquement par le gaz vecteur constitue la branche de comparaison, l'autre traversée par le gaz vecteur chargé des solutés à analyser sert de branche de mesure.

Des détecteurs très sensibles ont été mis au point utilisant l'ionisation des molécules ; actuellement se sont les détecteurs à ionisation de flamme les plus répandus commercialement. Une flamme d'hydrogène brûlant dans l'air produit des ions ; la présence d'un produit dans cette flamme augmente le nombre d'ions. Un thermocouple est placé au-dessus du brûleur et ses indications sont enregistrées à l'aide d'un potentiomètre.

o0o

REACTIONS D'IDENTIFICATION ET DE DOSAGE DU PHENOL ET DU PARA CRESOL.

PHENOL (9)

- formule C_6H_5OH
- température de fusion ..... 43°
- température d'ébullition.... 182°
- odeur caractéristique

3 crésols : ortho-méta-para

PARACRESOL

- température de fusion ..... 36°
- température d'ébullition ... 198°

STADELER (10) en 1851 a été le premier à démontrer la présence de phénol dans l'urine de la vache et de l'homme.

En 1893 KOSSLER et PENNY (11) concluent que le para crésol est présent dans l'urine de l'homme en plus grande quantité que le phénol.

Les recherches de ces composés ont été surtout pratiquées dans le cas des intoxications benzoliques.

Les réactions les plus courantes d'identification des composés à fonction phénolique sont celles de GIBBS et BAYLIS (12) à la 2. 6 dibromoquinone. chlorimide et celle de THEIS et BENEDICT à la paranitraniline diazotée.

Dans le travail de CREPY, JUDAS et JAYLE (14) les phénols sont mis en évidence par des méthodes physiques.

La chromatographie en phase gazeuse des phénols a été employée en 1959 par FITZGERALD (15), en 1960 par WEISS et KREYENBUHL (16), en 1964 par MENARD (1).

EXPERIMENTATION

L'URINE

Les urines ont été prélevées chez le nourrisson (par sondage ou pose d'un collecteur) et chez l'enfant de 1 à 9 ans.

Les nourrissons et les enfants ont été choisis dans deux services de l'Hôpital Intercommunal de Créteil :

. la maternité Docteur BRET
. Médecine Infantile Docteur LAJOUANINE

L'analyse s'est effectuée entre 1 h et 24 h après le prélèvement, jamais au-delà de 24 heures.

Les échantillons n'ont pas été soumis à une épreuve d'extraction, la méthode d'analyse par chromatographie en phase gazeuse étant séparative, il n'y a pas interférence des pics correspondant aux produits variés analysés.

Les urines sont examinées soit telles quelles, soit hydrolysées. Pour l'hydrolyse on ajoute à 50 ml d'urines :

- 10 ml de chlorure de baryum saturé à froid
- 4 ml d'acide chlorydrique 10 N

Cette solution est portée à l'ébullition à reflux pendant une heure sur bain de sable.

L'APPAREIL UTILISE

Le chromatographe employé est un appareil AEROGRAPH A 600 BHYFI couplé à un enregistreur SEFRAM de 2,5 mV d'étendue de mesure.

Température de l'injecteur ..... 250°
Température du four..... 150°
Pression d'H_2 ..... 0,7 p. s. i.
Pression de N_2 gaz vecteur ..... 32 p. s. i.

Débit de N_2 ..... 15 ml/mn
Longueur de la colonne ..... 2,50 m
Diamètre intérieur de la colonne ..... 3,16 mm.
Support solide ..... Chromosorb W 60. 80 mesh
Granulométrie ..... 0,18 à 0,25 mm
Phase liquide ..... Néopentyl-glycol succinate (N. P. G. S.)

Concentration de la phase liquide..
par rapport au support solide ..... 3 %
Sensibilité du détecteur ..... 10^9 10 X $\frac{1}{4}$

Imprégnation de la colonne.

Le N. P. G. S. est pesé puis dissout dans une certaine quantité d'acétone.

Le support (chromosorb W) est pesé puis mélangé avec la phase stationnaire et l'acétone dans un évaporateur rotatif sous vide qui permet l'homogénéisation du mélange et l'évaporation de l'acétone. Une grande partie de l'acétone évaporée, on achève l'évaporation par pose dans une étuve à 80° pendant 2 heures. Le mélange support-phase stationnaire parfaitement sec est ensuite soigneusement retamisé avant d'être utilisé pour le remplissage des colonnes.

Injection de l'échantillon d'urine.

L'échantillon d'urine d'un volume de 1 à 5 µl est injecté directement dans l'appareil à l'aide d'une seringue Hamilton (de 10 µl de contenance) ; un artifice de remplissage de la seringue par de l'eau distillée puis de l'air et la solution à analyser permet d'injecter un volume précis de solution.

Il est nécessaire de placer dans l'injecteur un tampon de laine de verre pour retenir les sels minéraux de l'urine : ainsi on ne souillera pas la colonne analytique.

De plus, entre chaque injection d'urines, on fait une injection d'eau afin, s'il y a lieu, d'extraire les traces de phénol et de crésol qui auraient pu être fixés en différents points de l'appareil.

Analyse qualitative

Les indices de rétention sont des caractéristiques permettant d'identifier les produits analysés.

Le volume de rétention et la quantité de gaz vecteur qui s'est écoulée dans la colonne depuis l'entrée du soluté jusqu'à sa sortie.

KOWATS (17) a proposé l'utilisation de l'indice de rétention donné par la formule :

$$I = 200 \frac{\log. V_N (X) - \log V_N (n Pz)}{\log V_N (nP_z + 2) - \log V_N (nP_z)} + 100 Z$$

$V_N (X)$ = volume de rétention absolu d'une substance X.

$n P_z$ et $n P_z + 2$ sont les paraffines normales à nombre pair d'atomes de carbone qui sortent immédiatement avant et après le soluté étudié.

Les résultats du calcul de l'indice de rétention dans les conditions d'expérimentation citées plus haut sont pour le :

- phénol 1,631
- para crésol 1,711

Analyse quantitative

On compare les surfaces des pics des phénol et para crésol obtenus à partir de la solution analysée avec les surfaces de ces mêmes constituants contenus dans une solution de référence de titres connus, référence par k 1.

pour le phénol ..... 0,02 k
pour le para crésol ..... 0,04 k

L'hydrolyse acide permet de masser les liaisons sulfo et glycuro conjuguées du phénol et du crésol ; on sait que ces deux substances (18) sont transformées par le foie en dérivés sulfo et glycuro conjugués puis éliminées dans les urines. Après hydrolyse, on dose les phénol et crésol totaux. 2 analyses, par échantillon, sont nécessaires pour déterminer :

- le dosage des phénol et crésol libres (sur urines normales)
- le dosage des phénol et crésol totaux (sur urines hydrolysées).

Les résultats sont présentés dans 2 tableaux :

le premier tableau

donne les caractéristiques des enfants choisis, leur pathologie éventuelle ayant motivé leur hospitalisation et leur traitement s'il y a lieu.

Les nourrissons choisis à la maternité sont normaux, sauf deux prématurés (14) (16).

Les nourrissons et enfants choisis dans le service de pédiatrie sont parfois des enfants normaux (17) (19) (20) (23) (25) (26) (27) hospitalisés en service de garde pour une étiologie qui ne se confirme pas dans le cadre hospitalier, comme il est fréquent en pédiatrie ; pour les autres le contexte pathologique est précisé.

le deuxième tableau

donne les taux de phénol et para-crésol dans les urines :

- exprimés en milligramme par litre (mg/l) dans les quatre premières colonnes.
- exprimés en milligramme par vingt quatre heures (mg/24 h) dans les quatre colonnes suivantes : ces chiffres expriment l'élimination journalière calculés à partir de la concentration par litre et de la diurèse.

Nous avons adopté, comme chiffres de diurèse, ceux donnés par MITCHELL NELSON.

(Voir tableau page suivante)

Age	Volume en ml
1 - 2 jours	30 - 60
3 - 10 jours	100 - 300
10 jours - 2 mois	250 - 450
2 mois - 1 an	400 - 500
1 à 3 ans	500 - 600
3 à 5 ans	600 - 700
5 à 8 ans	650 - 1000
8 à 14 ans	800 - 1400

Ces auteurs proposent un chiffre maximum et un chiffre minimum pour la diurèse, aussi nos résultats, pour l'élimination quotidienne du phénol et para-crésol, sont-ils représentés par deux chiffres.

(tableaux).

Numéro	Noms	Age	Sexe	Poids de naissance en Kg.	Poids le jour du prélèvement	Régime	Date du prélèvement	Contexte pathologique	Lieu du prélèvement	Traitement
1	Hu...	3	M.	3,210	3,180	LM (1)	19/7	0	M (1)	0
2	Pi...	4 j.	F.	3,000	2,770	LM	25/7	0	M	0
3	Ha...	6 j.	F.	3,100	2,920	LM	20/7	0	M	0
4	Pon...	6 j.	M.	3,160	2,930	LM	27/7	0	M	0
5	Ger...	6 j.	F.	3,390	3,140	LM + Gloria	22/7	0	M	0
6	Che...	7 j.	M.	3,350	3,300	LM	22/7	0	M	0
7	La...	7 j.	F.	3,270	3,330	LM	22/7	0	M	0
8	Co...	7 j	F.	2,750	2,460	Guigoz 1/2 E (2)	25/7	0	M	0
9	Ben...	8 j.	F.	2,600	2,450	LM + Gallia	20/7	0	M	0
10	Mer...	9 j.	M.	3,080	3,000	LM	19/7	0	M	0
11	Gui...	9 j.	M.	3,910	3,860	LM	27/7	0	M	0
12	Mon...	9 j.	F.	3,590	3,490	LM	27/7	0	M	0
13	Wel...	13 j.	F.	3,010	3,040	Gallia bleu	20/7	0	M	0
14	Bel...	1 mois	M.	2,190	2,900	LM+Guigoz 1/2 E.	20/7	prématuré	M	Adégic 3 + Stérogyl 4 +VitC c. à. c
15	Kess..	1 m. 1/2	F.	3,160	3,920	Gloria + Diase	25/7	0	M	" " "
16	Ró....	1 m. 1/2	M.	2,100	2,840	Guigoz 1/2 E.	27/7	prématuré	M	" + " "
17	Ba....	1 m. 1/2	M.		4,740	LM+Guigoz 1/2 E.	9/9	Contexte social défectueux	P (2)	0
18	Ka....	2 m. 1/2	M.		5,300	Guigoz 1/2 E.	14/9	Hospi. le 29/8 pour Leiner-Moussus	P	Tétracycline 0,25 g. + Antibiophilus 1 A.
19	Pi....	3 m. 1/2	M.		6,100	varié (4 repas)	14/9	Contexte social défectueux	P	0
20	Haf...	4 m. 1/2	M.		6,830	varié (4 repas)	14/9	Hospi. le 2/9 pour hyperthermie	P	0
21	Che...	5 mois	M.		5,130	anti-diarrhéique	9/9	Hospi. le 3/9 pour diarrhée	P	Colymicine 1 M. + Ganidan 0,50 g. + Antibio. 1 A.
21 bis	Che...	5 mois	M.		4,960	anti-diarrhéique	14/9	" "	P	
22	Co....	6 mois	F.		7,110	varié av. hôpital	16/9	Hospita. le 14/9 pour diarrhée	P	Perfusion + Colimycine 1,5 M. + Ganidan 1 g.
23	Flo...	8 m. 1/2	F.		6,800	varié	16/9	Hospita. le 10/9 pour suites d'otite	P	0
24	De....	1 an	F.		10,100	varié av. hôpital	16/9	Hospi. le 15/9 pour diarrhée et déshydratation	P	Perfusion
25	Ha....	14 mois	F.		8,100	varié	7/9	Hospi. le 22/8 pour diarrhée non confirmée	P	Furadoine pendant 4 jours à dater du 29/8.
26	Go....	16 mois	M.		9,050	varié	7/9	Hospi. pour diarrhée non confirmée	P	0
27	Ka....	2 ans	F.		13,990	varié	7/9	Hosp. pour hyperthermie non expliquée	P	0
28	Der...	2 ans	F.		8,900	varié	7/9	Hosp. le 2/9 pour hypotrophie d'étiologie non déterminée	P	0
29	Cor...	3 ans	M.		19	varié	6/9	Hosp. le 26/8 pour suites de traumatisme crânien	P	0
30	Bru...	3a 3m.	F.		13,600	varié	8/9	Néphrose lipoïdique sans traitement actuel	P	0
31	Ca....	3 ans	M.		15,700	varié	14/9	Hosp. le 13/9 pour ingestion de Juvépyrine (6 à 10 c.)	P	0
32	Ta....	4 ans	M.		14,700	varié	6/9	Convulsions ce jour	P	Gardénal 0,04 g. I. M.
33	Ka....	5 ans	M.		11,800	Régime sans gluten	9/9	Maladie caeliaque	P	0
34	Zé....	8 ans	F.		27,100	varié	6/9	Hosp. le 1/9 pour encéphalopathie	P	0
35	Sé....	9 ans	M.		24,000	varié	6/9	Hospi. pour stomatite		

(1) lait maternel
(2) demi-écrémé

(1) Service de pédiatrie
(2) Maternité

Numéro	Noms	P. libre mg. /l.	P. total mg. /l.	P. C. libre mg. /l.	P. C. total mg. /l.	P. libre mg. /l. /24 h.	P. total mg. /24 h.	P. C. libre mg. /24 h.	P. C. total mg. /24 h.
1	Hu...	non dosé 1	3,12	non dosé	22,25	non dosé	0,31 - 0,93	non dosé	2,22 - 6,67
2	Pi...	1,01	"	1,75	"	0,10 - 0,30	"	0,17 - 0,52	"
3	Ha...	0,85	2,17	T.	1,98	0,08 - 0,25	0,21 - 0,65	T.	0,19 - 0,59
4	Pon..	T. (2)	1,15	T.	T.	T.	0,11 - 0,34	T.	T.
5	Ger...	T.	T.	T.	T.	T.	T.	T.	T.
6	Ches..	0,93	1,63	T.	T.	0,09 - 0,27	0,16 - 0,48	T.	T.
7	La....	T.	T.	T.	T.	T.	T.	T.	T.
8	Co....	1,01	T.	T.	T.	0,10 - 0,30	T.	T.	T.
9	Ben...	1,13	T.	0,58	T.	0,11 - 0,33	T.	0,05 - 0,17	T.
10	Mer...	T.	0,44	T.	0,89.	T.	0,04 - 0,13	T.	0,08 - 0,26
11	Gui...	T.	1,35	T.	T.	T.	0,13 - 0,40	T.	T.
12	Mon...	T.	0,96	T.	T.	T.	0,09 - 0,28	T.	T.
13	Wel...	0,83	1,89	T.	0,83	0,20 - 0,37	0,47 - 0,85	T.	0,20 - 0,37
14	Bel...	1,03	1,52	T.	0,61	0,03 - 0,06	0,04 - 0,08	T.	0,01 - 0,02
15	Kess..	T.	0,24	T.	0,21	T.	0,06 - 0,10	T.	0,05 - 0,09
16	Ro....	0,47	T.	T.	T.	0,11 - 0,21	T.	T.	T.
17	Ba....	T.	"	T.	"	T.	"	T.	"
18	Ka....	T.	T.	T.	T.	T.	T.	T.	T.
19	Pi....	20	"	T.	"	8,00 - 10,0	"	T.	"
20	Haf...	14	34,04	2,6	4,60	5,60 - 7,00	13,41 - 17,02	1,04 - 1,30	1,84 - 2,30
21	Che...	T.	T.	T.	T.	T.	T.	T.	T.
21 bis	Che...	0,07	1,02	2,5	4,35	0,02 - 0,03	0,40 - 0,51	1,00 - 1,25	1,74 - 2,17
22	Co....	0,4	4	0,04	2,4	0,16 - 0,20	1,60 - 2,00	0,01 - 0,02	0,96 - 1,20
23	Flo...	30	"	T.	1,8	12,00 - 15,00	"	T.	0,72 - 0,90
24	De....	8	17,02	3,5	4,5	4,00 - 4,80	8,51 - 10,21	1,75 - 2,10	2,21 - 2,70
25	Ha....	23	40,96	3,9	5,62	11,50 - 13,8	20,48 - 24,57	1,95 - 2,14	2,81 - 3,37
26	Go....	0,5	6,40	T.	1,40	0,25 - 0,30	3,20 - 3,84	T.	0,70 - 0,84
27	Ka....	9	12,80	absence	absence	4,50 - 5,40	6,40 - 7,68	absence	absence
28	Der...	1,1	101,12	absence	2,81	0,55 - 0,66	50,51 - 60,67	absence	1,40 - 1,68
29	Cor...	2,8	15,36	3,8	26,88	1,68 - 1,96	9,21 - 10,75	2,28 - 2,66	16,12 - 18,81
30	Bru...	T.	8,96	T.	8,32	T.	5,37 - 6,27	T.	4,89 - 5,82
31	Ca....	2,5	5,88	2,3	7,04	1,50 - 1,75	3,52 - 4,11	1,38 - 1,61	4,22 - 4,92
32	Ta....	6,5	15,36	29	71,28	3,90 - 4,55	9,21 - 10,75	17,4 - 20,3	42,74 - 49,89
33	Ka....	0,52	1,40	absence	absence	0,33 - 0,52	0,91 - 1,40	absence	absence
34	Zé....	21	38,40	33	62,72	16,80 - 29,40	30,72 - 53,76	26,40 - 46,20	50,17 - 87,80
35	Sé....	11	17,92	9	12	8,80 - 15,40	14,33 - 25,08	7,2 - 12,6	9,6 - 16,8

(1) Echantillon d'urines très réduit, utilisé dans sa totalité pour l'hydrolyse.

" - Hydrolyse manquée.

(2) T. = traces.

Les recherches ont été pratiquées sur 35 enfants dont :

18 de sexe masculin
17 de sexe féminin

Schématiquement, on peut dire que, jusqu'à 1 an, le phénol et le para crésol sont présents en très minime quantité, souvent non chiffrable.

Le premier enfant (n° 20) ayant des taux de phénol et de para-crésol nets se trouve être le premier enfant ayant un régime varié avec légumes, viande et fruits.

Après 1 an les taux de phénol et de para crésol sont nets ; en comparant ces résultats peu nombreux à ceux relatifs à l'adulte (travaux de MENARD (1) et de LEBBEJ, LAFARGE J. P., MENARD R. A. (20)) on peut dire qu'ils restent inférieurs à ces derniers.

Après analyse des résultats quelques remarques peuvent se dégager :

1 - le phénol semble apparaître plus précocément que le para-crésol ; de plus le chiffre du phénol reste longtemps plus élevé que celui du para crésol ; 3 enfants seulement (29) (32) (34) ont des chiffres plus élevés pour le para crésol que pour le phénol et tendraient à se rapprocher de l'adulte.

2 - Il n'y a pas de para crésol pour deux enfants (27) (33) : le premier enfant est normal ; le deuxième présente une pathologie bien définie dont nous parlerons un peu plus loin.

3 - Phénol et para crésol libres présentent, le plus souvent, un rapport de 1 sur 2, comparés aux phénol et para crésol totaux. Cependant 4 enfants sont très éloignés de ce schéma :

- enfant (26) pour qui phénol et para-crésol libres sont négligeables. Il s'agit d'un enfant normal par ailleurs.

- enfant (28) qui présente des résultats très originaux : le para crésol libre est absent ; mais surtout le chiffre du phénol total est remarquablement élevé (101, 12 pour la concentration par litre) pour un chiffre de phénol libre très bas (1, 1 pour la concentration par litre). Cet enfant n'est pas tout à fait normal : il s'agit d'un enfant nord-africain dont l'hypotrophie a été découverte après un séjour de 2 mois dans son pays natal (Algérie) ; après 3 semaines d'hospitalisation l'étiologie n'a pas été déterminée.

- enfant (29) présente des taux de phénol et crésol totaux 7 fois supérieurs à ceux de ces mêmes constituants sous forme libre.

- enfant (30) présente des chiffres de phénol et para crésol libres non chiffrables alors que les chiffres de ces constituants totaux sont nets ; cet enfant est porteur d'une néphrose lipoïdique déjà traitée dans le passé.

4 - L'enfant (33) présente une maladie métabolique bien précise : la maladie coeliaque avec un régime typique sans gluten. Cet enfant n'a pas d para crésol, et les taux de phénol sont très bas, peut-on rattacher ces deux anomalies à la pathologie citée ci-dessus ? dans l'état de nos connaissances, nous n'avons aucune réponse.

5 - Les dosages pour l'enfant (21) ont été faits à 2 reprises, de manière fortuite d'ailleurs. Au 6e jour d'hospitalisation, les résultats sont pratiquement nuls, au 11e jour les résultats se précisent. Cet enfant avait un régime normal avant l'hospitalisation mais, après l'épisode diarrhéique, un régime diététique strict (antidiarrhé-

ique classique) a été prescrit, régime qui se rapproche ensuite progressivement du régime varié. Est-ce là l'explication des résultats légèrement différents ?

o0o

CONCLUSION

En résumé il y a une grande dispersion dans les résultats ; mais la dispersion des échantillons est aussi très importante :

- dispersion en fonction de l'âge des enfants
- dispersion en fonction du régime
- dispersion en fonction de la pathologie : la plupart des enfants étant normaux, mais certains présentant une pathologie qui a été précisée.

On peut dire que le phénol et la para crésol sont en quantité minime dans les urines jusqu'à l'âge de 1 an ; après 1 an le phénol et le para crésol sont en quantité plus importante inférieure à celle des adultes.

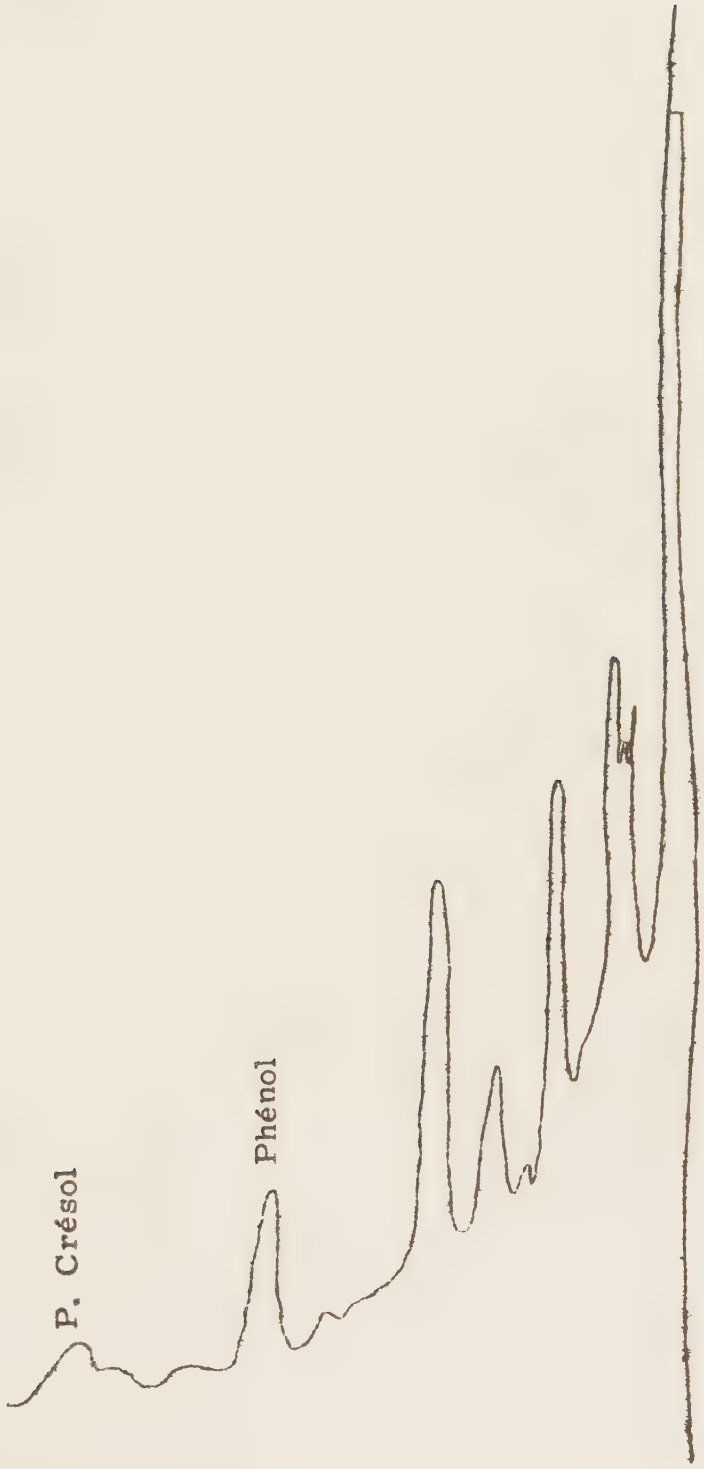
Les résultats atypiques ont été soulignés mais non interprétés.

Ce travail, à notre connaissance, n'avait pas encore été entrepris chez l'enfant ; pour nous il constitue un travail d'approche, nécessairement dispersé dans son déroulement et ses résultats.

ADDENDUM

Chromatogramme n° 1

Le pic du phénol est plus important que celui du para-crésol


P. Crésol
Phénol

Chromatogrammes n° 2

Le pic du phénol est moins important que celui du para-crésol

P. Crésol
Phénol

Chromatogramme n° 3.

Le pic du phénol est très important, celui du para-crésol est à peine repérable.

Phénol
P. Crésol

Vu, le Président de Thèse :

Pr H. DESOILLE.

Vu, le Doyen de la Faculté :

Pr G. BROUET.

Vu et Permis d'Imprimer
le Recteur de l'Académie de Paris

J. ROCHE.

BIBLIOGRAPHIE

1 - MENARD R.A. :

Une nouvelle méthode de détection et de dosage du phénol et du para crésol dans les urines grâce à la chromatographie en phase gazeuse.
Thèse médecine, Paris 1964.

2 - MARTIN et SYNGE

Biochem. J. 1941 T 35 p. 1 358.

3 - MARTIN et JAMES

Biochem. J. 1952 T 5O p 679.

4 - PHILIPS C. S. G.

Gas chromatography
1 vol. Butterworths Scient. Publications, édit., London, 1956.

5 - KEULEMANS

Gas chromatography, Paeinhold
Publishing Corporation, 1957.

6 - LEDERER E.

Chromatographie en chimie organique et biologique.
Monographies de chimie organique. 1959.
Théories et techniques de la chromatographie en phase gazeuse par Paul CHOVIN et Jacques LEBBE.

7 - KAISER R.

Gas phase chromatography 1963
Butterworks.

8 - TRANCHANT J.

Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse.
Paris 1964. Masson & Cie
- Généralités page 11 par J. TRANCHANT
- L'appareillage p. 29 par J. LEBBE
- Analyse qualitative p. 115 par G. GUIOCHON
- Analyse quantitative page 173 par J. LEBBE

9 - GRIGNARD V.

Précis de chimie organique
Masson Ed. Paris 4e édition.

10 - STADELER G.

Ann. Chem. Pharm. 77 : 17 - 1851.

11 - KOSSLER - PENNY

Z. f. physiol. Chem. 17 : 117 - 1893.

12 - GIBBS, H. D.

Phenol tests
J. Biol. Chem., 1927, 72, 649.

13 - THEIS, R. C. et BENEDICT, S. R.

Determination of phenols in the blood
J. Biol. Chem. 1924, 61 - 67.

14 - CREPY O., JUDAS O., et JAYLE M. F.

Isolement à l'état cristallin et identification du sulfate de para crésol dans les urines de grossesse.
Biochem. Biophys. Acta, 1962, 60, 34-43.

15 - FITZGERALD, J. S. :

Gas chromatography applied to the analysis of phenols.
Australian J. Appl. Sci. 1959, 10, 169-189.

16 - WEISS, H., et KREYENBUHL A. :

Analysis of phenols by gas chromatography.
Bul. Soc. Chim., 1959, 11-12, 1880 - 1885.

17 - KOWATS E.,

Helv. Chim. Acta 41 - 1915, 1958.

18 - POLONOVSKI et Coll.

Masson Ed., Paris 1961 - 6e édition.
Biochimie médicale.

19 - MITCHELL - NELSON

Text of Pediatrics, Philadelphie 1950

20 - LEBBE J., LAFARGE J.-P., MENARD R.A. :

Recherche et dosage des monophénols urinaires par chromatographie en phase gazeuse

Archives des Maladies Professionnelles, de Médecine du Travail et de Sécurité Sociale (Paris) ; 1966, T. 27, n° 7 - 8, juillet Août (pp. 565 - 570).

ooOoo

TABLE DES MATIERES

- Introduction

- Historique de la méthode de chromatographie en phase gazeuse

- Généralités sur la méthode de chromatographie en phase gazeuse :

  - schéma de l'appareil
  - le gaz vecteur
  - mesure du débit
  - chambre d'injection
  - colonnes
  - détecteurs.

- Réactions d'identification et de dosage du phénol et du para crésol.

- Expérimentation

  - l'échantillon : l'urine
  - l'appareil utilisé

- Résultats

- Conclusions

- Addendum

- Bibliographie.

ooOoo

agemp
EDITIONS
40 R. Pascal
PARIS 13e
TELEPHONE
535:18—93
535:18—62